

川芎嗪通过抑制 circ_0026462 调控先兆子痫发展中滋养层细胞增殖、侵袭和迁移

冯双苗, 张化莲

驻马店市中心医院 病理产科, 河南 驻马店 463000

摘要: **目的** 探讨川芎嗪对先兆子痫发展中滋养层细胞增殖、侵袭和迁移的影响及其作用机制。**方法** 用左旋硝基精氨酸甲酯建立先兆子痫动物模型, 并随机分为对照组、模型组和川芎嗪组, 采用苏木素-伊红染色观察胎盘组织病理学变化。人绒毛膜滋养层 HTR8/SVneo 细胞和人绒毛膜癌 JEG3 细胞给予川芎嗪干预后, 采用 CCK-8 实验、EdU 实验、Transwell 实验以及划痕实验检测细胞增殖、侵袭及迁移能力; 利用 NCBI 在线数据库 (GSE165324) 分析先兆子痫患者来源的人脐静脉血管内皮细胞和正常人脐静脉血管内皮细胞中前 8 个上调的 circRNAs; qRT-PCR 法检测川芎嗪对 HTR8/SVneo 和 JEG3 细胞 circRNA 表达的影响, 以及先兆子痫患者和对照组胎盘组织中的 circ_0026462 表达量; 利用 RNase R 分析 circRNA 稳定性。circRNA 过表达后, 检测川芎嗪对 HTR8/SVneo 和 JEG3 细胞增殖、侵袭及迁移能力的影响。**结果** 川芎嗪可以改善左旋硝基精氨酸甲酯诱导的大鼠胎盘组织细胞肿胀、空泡化增加以及炎症细胞浸润现象, 并促进滋养层细胞增殖、侵袭和迁移 ($P < 0.05$)。与对照组比较, circ_0026462 在先兆子痫患者胎盘组织中高表达 ($P < 0.05$)。川芎嗪抑制滋养层细胞中 circ_0026462 的表达 ($P < 0.05$)。circ_0026462 过表达抑制滋养层细胞增殖、侵袭和迁移 ($P < 0.05$)。此外, circ_0026462 过表达能够逆转川芎嗪对滋养层细胞增殖、侵袭和迁移的促进作用 ($P < 0.05$)。**结论** 川芎嗪通过抑制 circ_0026462 的表达促进滋养层细胞增殖、侵袭和迁移。

关键词: 川芎嗪; 先兆子痫; 滋养层细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; circ_0026462

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2024)13 - 4455 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.13.017

Ligustrazine regulates trophoblast cell proliferation, migration and invasion by inhibiting circ_0026462

FENG Shuangmiao, ZHANG Hualian

Department of Pathological Obstetrics, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of ligustrazine on proliferation, invasion and migration of trophoblast cells during the development of preeclampsia. **Methods** An animal model of preeclampsia was established using *L*-nitroarginine methyl ester and randomly divided into control group, model group and ligustrazine group, hematoxylin eosin staining was used to observe pathological changes in placental tissue. After administering ligustrazine intervention to human trophoblast HTR8/SVneo cells and human choriocarcinoma JEG3 cells, cell proliferation, invasion and migration abilities were detected using CCK-8 assay, EdU assay, Transwell assay and scratch assay; NCBI online database (GSE165324) was used to analyze the first eight upregulated circRNAs in human umbilical vein endothelial cells from patients with preeclampsia and normal human umbilical vein endothelial cells; qRT-PCR method was used to detect the effect of ligustrazine on the expressions of circRNA in HTR8/SVneo and JEG3 cells, as well as the expression level of circ_0026462 in placental tissue of patients with preeclampsia and control group; RNase R was used to analyze the stability of circRNA. After overexpression of circRNA, the effect of ligustrazine on proliferation, invasion and migration ability of HTR8/SVneo and JEG3 cells were detected. **Results** Ligustrazine could improve the swelling, increased vacuolization and inflammatory cell infiltration of rat placental tissue cells induced by *L*-nitroarginine methyl ester, and promote the proliferation, invasion and migration of trophoblast cells ($P < 0.05$). Compared with control group, circ_0026462 was highly expressed in placental tissue of patients with preeclampsia ($P < 0.05$). Ligustrazine inhibited the expression of circ_0026462 in trophoblast cells ($P < 0.05$).

收稿日期: 2024-01-03

作者简介: 冯双苗, 硕士, 副主任医师, 研究方向为妊娠病理。E-mail: fsmiao0607@163.com

Overexpression of circ_0026462 inhibited proliferation, invasion and migration of trophoblast cells ($P < 0.05$). In addition, overexpression of circ_0026462 could reverse the promoting effect of ligustrazine on proliferation, invasion and migration of trophoblast cells ($P < 0.05$). **Conclusion** Ligustrazine promotes proliferation, invasion and migration of trophoblast cells by inhibiting the expression of circ_0026462.

Key words: ligustrazine; preeclampsia; trophoblast cell; proliferation; migration; invasion; circ_0026462

先兆子痫是一种以高血压和蛋白尿为主要临床特征的妊娠综合征,常发生在妊娠 20 周后,影响着全球约 2%~8% 的孕妇,严重者可导致胎儿和孕妇的死亡^[1]。川芎嗪是一种生物碱,是川芎 *Chuangxiong Rhizoma* 的有效成分之一,研究表明川芎嗪具有抗炎、抗氧化、抗细胞凋亡、保护神经等多种生物活性,还可以调节血管舒张与生成,保护内皮细胞,抑制平滑肌细胞的迁移和增殖^[2-3]。Yuan 等^[4]发现川芎嗪通过抑制人绒毛膜癌 JEG3 细胞中 miR-16-5p 表达,上调胰岛素样生长因子-2 (insulin like growth factor-2, IGF-2) 表达,从而抑制细胞自噬,提高细胞活力和迁移能力,进而抑制先兆子痫的进展。Wang 等^[5]发现川芎嗪通过影响 miR-27a-3p/激活转录因子 3 (activating transcription factor 3, ATF3) 轴促进滋养层细胞迁移和增殖。以上研究表明川芎嗪可能参与先兆子痫的进展。此外,根据 GSE165324 数据集,本研究发现 circ_0026462 在先兆子痫患者中高表达,且川芎嗪抑制 JEG3 细胞中 circ_0026462 的表达,提示 circ_0026462 可能参与川芎嗪对先兆子痫发展的调控作用。本研究旨在分析川芎嗪和 circ_0026462 在滋养层细胞增殖、迁移和侵袭中的作用,探讨川芎嗪是否通过调控 circ_0026462 表达来调节先兆子痫进展。

1 材料

1.1 动物与细胞

SPF 级 SD 大鼠,体质量 280~310 g,由西安交通大学医学院实验动物中心提供,动物使用许可证号 SYXK (陕) 2020-005。动物实验经驻马店市中心医院动物保护委员会批准,批准号为驻市中心医动[2022]001 号。

人绒毛膜滋养层 HTR8/SVneo 细胞(货号 CRL-3271)、JEG-3 细胞(货号 HTB-36)购自美国 ATCC 公司。

1.2 胎盘组织样本

本研究共纳入 27 例先兆子痫患者以及 27 例生理正常妊娠患者,均于 2022 年 1 月—2022 年 12 月在驻马店市中心医院产科接受剖宫产手术,分娩后

立即从距离外周 2 cm 处随机采集胎盘组织样本,所有标本储存于-80 °C 条件下。本研究已通过驻马店市中心医院医学伦理学研究委员会的批准,审批号为驻市中心医伦[2022]002 号,患者对本研究内容知情同意。

1.3 药品与试剂

川芎嗪(批号 1124-11-4)、4%多聚甲醛(批号 30525-89-4)、CCK-8 试剂盒(批号 20180730-1)购自北京索莱宝科技有限公司;胎牛血清(批号 N2676852P)、RPMI 1640 培养基(批号 P05961640)、Lipofectamine 2000 试剂(批号 2901586)购自美国 Invitrogen 公司;RNase R 酶(批号 8888-88-8)购自北京吉赛生物科技有限公司;EdU 试剂盒(批号 53213-82-4)、circ_0026462 过表达载体、对照空载体 pCD5-ciR 购自广东锐博公司;SYBR Green 试剂盒(批号 163795-75-3)购自日本 Takara 公司;左旋硝基精氨酸甲酯 (*L*-nitroargininemethylester, *L*-NAME, 批号 51298-62-5)购自美国默克生物公司。

1.4 仪器

ML31 型生物显微镜(广州市明美光电技术有限公司);RNE90002 型微孔板读取器(美国 REAGEN 公司);IX71 型荧光显微镜、CKX53 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);7500 型 qRT-PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 造模、分组与给药 将雌性大鼠与雄性大鼠按照 1:2 比例进行合笼并饲养在 SPF 级动物房中,室温控制在 20~26 °C,相对湿度 40%~60%,每日光照 12 h,自由进食饮水。次日,以观察到雌鼠阴道中有精子并有阴栓脱落为孕第 0 天。妊娠 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和川芎嗪(60 mg/kg)组。妊娠第 7 天,连续 11 d sc 1 mL *L*-NAME (200 mg/kg) 构建先兆子痫模型。妊娠第 4~18 天,每天 ig 给药;妊娠第 19 天,对小鼠进行安乐死,取胎盘组织。

2.1.2 苏木素-伊红(HE)染色观察胎盘组织病理变

化 将各组大鼠胎盘组织石蜡包埋标本切片(厚 5 μm), HE 染色后, 于生物显微镜下观察并拍照。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞培养 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞用含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中。

2.2.2 分组与给药 设置对照组和川芎嗪(5、10、15 nmol/L)组, 加入不同浓度的川芎嗪处理细胞, 对照组加入不含药物的培养基, 考察川芎嗪对 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞活力的影响。设置对照组和川芎嗪(15 nmol/L)组, 加入川芎嗪处理细胞, 对照组加入不含药物的培养基, 考察川芎嗪对 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞增殖、侵袭、迁移的影响, 并考察川芎嗪对 JEG-3 细胞 circRNAs 表达的影响。

采用 Lipofectamine2000 脂质体分别将 circ_0026462 或 pCD5-ciR 载体转染至 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞, 记为 circ_0026462 组或 pCD5-ciR 组; 转染后的细胞与 15 nmol/L 川芎嗪共孵育 48 h, 记为川芎嗪+circ_0026462 组或川芎嗪+pCD5-ciR 组; 另设置对照组和川芎嗪(15 nmol/L)组。考察细胞活力、增殖、侵袭、迁移能力。

2.2.3 CCK-8 实验 将 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞分别以 5 000 个/孔接种于 96 孔板中, 按照“2.2.2”项下分组处理细胞 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中孵育 2 h, 采用微孔板读取器在 450 nm 处测定吸光度(A)值。

2.2.4 EdU 实验 将 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞分别以 5 000 个/孔接种于 96 孔板中, 按照“2.2.2”项下分组处理细胞 24 h 后, 加入 50 $\mu\text{mol/L}$ EdU 孵育 2 h, 然后用 4%多聚甲醛固定细胞, 再用 0.3% Triton X-100 处理细胞, 加入 click 反应液孵育 30 min, DAPI 染色细胞核, 于显微镜下观察 EdU 阳性细胞。

2.2.5 Transwell 实验 收集“2.2.2”项下处理的各组细胞, 并以无血清培养基稀释, 将 5×10^4 个细胞接种在预涂有 Matrigel 基质的 Transwell 小室上室中, 下室加入 500 μL 含 10%胎牛血清的新鲜培养基。孵育 24 h 后, 用棉签擦去小室上部的细胞。侵袭的细胞用 4%多聚甲醛固定, 1%结晶紫染色, 最后在倒置显微镜下拍照计数。

2.2.6 划痕实验 收集“2.2.2”项下处理的各组细胞, 以 6×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 细胞融合度达到 90%后, 用 200 μL 移液管尖端在各板的中心制

造划痕, 用 PBS 洗涤后记为 0 h。然后加入无血清培养基培养 24 h。应用显微镜分别在 0、24 h 拍摄划痕, 采用 Image J 软件测量划痕宽度, 评估细胞迁移能力。

2.2.7 CircRNA 表达谱分析 在 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)选择 GSE DataSets 后, 输入 GSE165324, 点击“search”进行搜索; 打开搜索出的第 1 个结果, 点击“Analyze with GEO2R”按钮; 对所显示的 4 组对照组(正常人脐静脉血管内皮细胞)和实验组样品(先兆子痫患者来源的人脐静脉血管内皮细胞)进行分析; 选择显示有 ID 号的 circRNA 并保存数据; 对得到的数据按照差异倍数(fold change, FC)值由大到小进行排序; 随后找到前 8 个上调的 circRNAs; 根据 circRNA 序列利用 circBase 在线数据库找到 circRNA 的具体名字; 查找特定 circRNA 的表达值, 将 circRNA 的表达值取 $\log_2(\text{数值}+1)$, 最终用 Graphpad 软件绘制热图。

2.2.8 qRT-PCR 分析 circRNAs 表达 按照试剂盒说明书提取“2.2.2”项下处理的细胞和先兆子痫患者胎盘组织中总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。引物序列: circ_0026462 上游引物 5'-GGAGAGGTCTTAACTCCCCA-3', 下游引物 5'-GCCATAGCTGCCACGAATTT-3'; GAPDH 上游引物 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3', 下游引物 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'。

将提取的 RNA 和 RNase R (3~4 U/ μg RNA) 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min, 再对样品中 circ_0026462 表达进行定量, 以评估 circ_0026462 的稳定性。

2.3 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间采用独立样本 t 检验, 多组间采用 ANOVA 分析。应用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据。

3 结果

3.1 川芎嗪促进滋养层细胞增殖、侵袭以及迁移

胎盘组织 HE 染色结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠胎盘组织细胞肿胀、空泡化增加、炎症细胞浸润; 与模型组比较, 川芎嗪组大鼠胎盘组织炎症浸润减轻, 新生血管增多(图 1)。如图 2-A 所示, 与对照组比较, 川芎嗪显著促进 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞的活力($P < 0.05$), 且呈剂量相关性。由于 15 nmol/L 川芎嗪处理时细胞活力增强接近 50%, 所以选择 15 nmol/L 川芎嗪进行后续实验。如图 2-B~D 所示, 与对照组比较, 川芎嗪显著增加

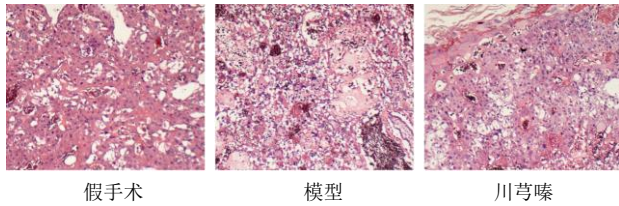


图 1 川芎嗪对先兆子痫大鼠胎盘组织病理变化的影响 (HE, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of ligustrazine on pathological changes of placental tissue in rats with preeclampsia (HE, $\times 200$)

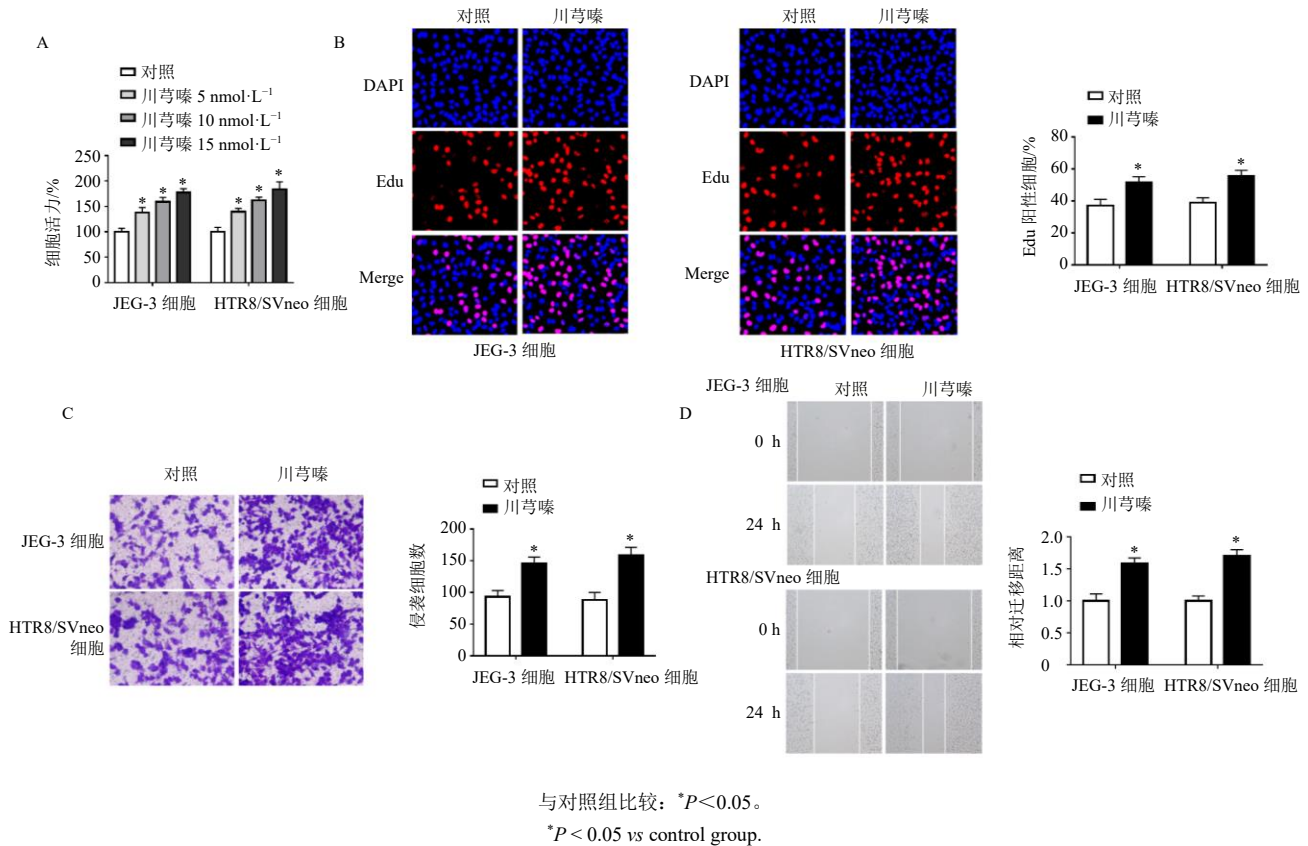


图 2 川芎嗪对 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞活力 (A)、增殖 (B, $\times 200$)、侵袭 (C, $\times 200$) 以及迁移 (D, $\times 100$) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Fig. 2 Effect of ligustrazine on viability (A), proliferation (B, $\times 200$), invasion (C, $\times 200$) and migration (D, $\times 100$) of HTR8/SVneo and JEG-3 cells ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

图 3-B), 且先兆子痫患者胎盘组织中 circ_0026462 的表达量高于对照组 ($P < 0.05$, 图 3-C)。如图 3-D、E 所示, 与 GAPDH mRNA 表达相比, circ_0026462 在 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞中可以抵抗 RNase R 的降解, 表明 circ_0026462 是一个稳定的 circRNA。

3.3 circ_0026462 高表达抑制滋养层细胞增殖、侵袭以及迁移

如图 4-A 所示, circ_0026462 质粒转染显著增

HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞 EdU 阳性细胞数量、侵袭及迁移细胞数量 ($P < 0.05$), 表明川芎嗪能够促进滋养层细胞增殖、侵袭以及迁移。

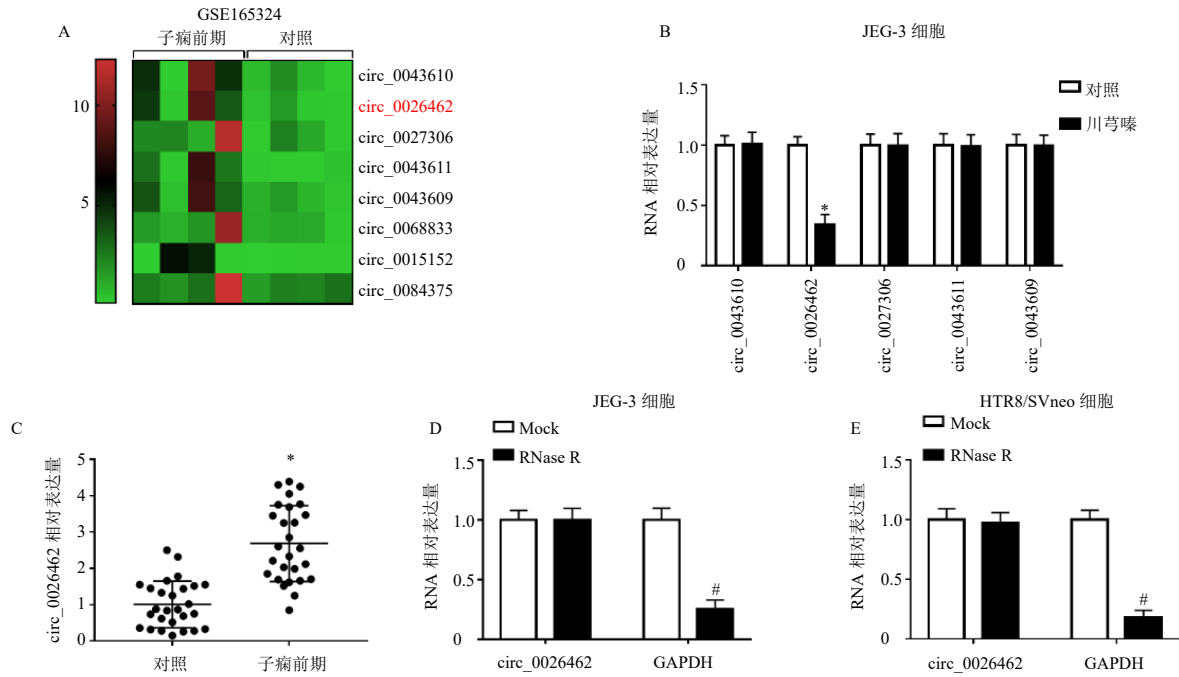
3.2 川芎嗪抑制滋养层细胞中 circ_0026462 表达

根据 GSE165324 数据集, 本研究共发现 8 个 circRNAs 在先兆子痫患者中高表达, 见图 3-A。随后利用 qRT-PCR 分析了川芎嗪对 JEG-3 细胞中前 5 个 circRNAs 表达的影响。结果显示, 与对照组比较, 川芎嗪仅显著降低 circ_0026462 表达 ($P < 0.05$,

加 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞中 circ_0026462 的表达 ($P < 0.05$)。如图 4-B~E 所示, 与 pCD5-ciR 组比较, circ_0026462 组 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞活力、EdU 阳性细胞数、侵袭及迁移细胞数显著减少 ($P < 0.05$)。表明 circ_0026462 高表达抑制滋养层细胞增殖、侵袭以及迁移。

3.4 circ_0026462 高表达逆转川芎嗪对滋养层细胞增殖、侵袭以及迁移能力的促进作用

如图 5 所示, 与川芎嗪+CD5-ciR 组比较, 川

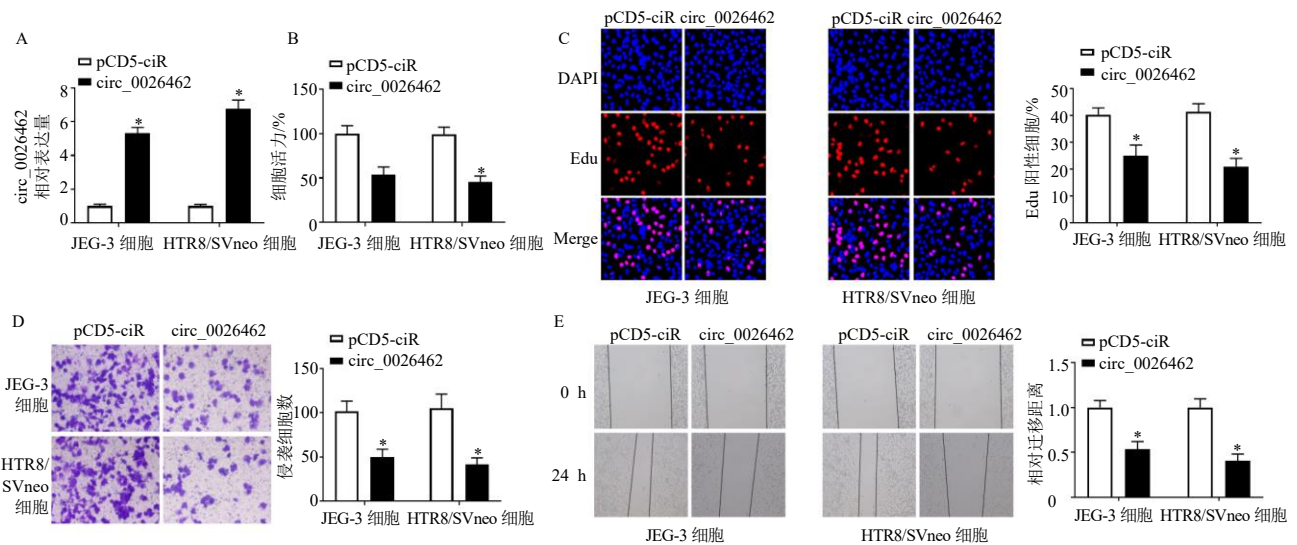


A-热图分析先兆子痫患者中前 8 个高表达的 circRNAs; B-qRT-PCR 检测川芎嗪处理后 JEG-3 细胞中 circRNAs 的表达 ($n=9$); C-qRT-PCR 检测先兆子痫患者以及对照胎盘组织中 circ_0026462 的表达 ($n=9$); D、E-qRT-PCR 检测 RNase R 处理后 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞中 circ_0026462 的表达 ($n=9$); 与对照组比较: $*P<0.05$; 与相应 Mock 组比较: $\#P<0.05$ 。

A-heat map analysis of the first eight highly expressed circRNAs in patients with preeclampsia; B-expressions of circRNAs in JEG-3 cells treated with ligustrazine detected by qRT-PCR ($n=9$); C-expression of circ_0026462 in placental tissue of patients with preeclampsia and control group detected by qRT-PCR ($n=9$); D, E-expression of circ_0026462 in HTR8/SVneo and JEG-3 cells after RNase R treatment detected by qRT-PCR ($n=9$); $*P<0.05$ vs control group; $\#P<0.05$ vs corresponding Mock group.

图 3 川芎嗪抑制滋养层细胞中 circ_0026462 表达

Fig. 3 Ligustrazine inhibits circ_0026462 expression in trophoblast cells



与 pCD5-ciR 组比较: $*P<0.05$ 。

$*P<0.05$ vs CD5-ciR group.

图 4 circ_0026462 高表达对 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞 circ_0026462 表达 (A)、活力 (B)、增殖 (C, $\times 200$)、侵袭 (D, $\times 200$) 以及迁移 (E, $\times 100$) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Fig. 4 Effect of circ_0026462 high expression on circ_0026462 expression (A), viability (B), proliferation (C, $\times 200$), invasion (D, $\times 200$) and migration (E, $\times 100$) of HTR8/SVneo and JEG-3 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

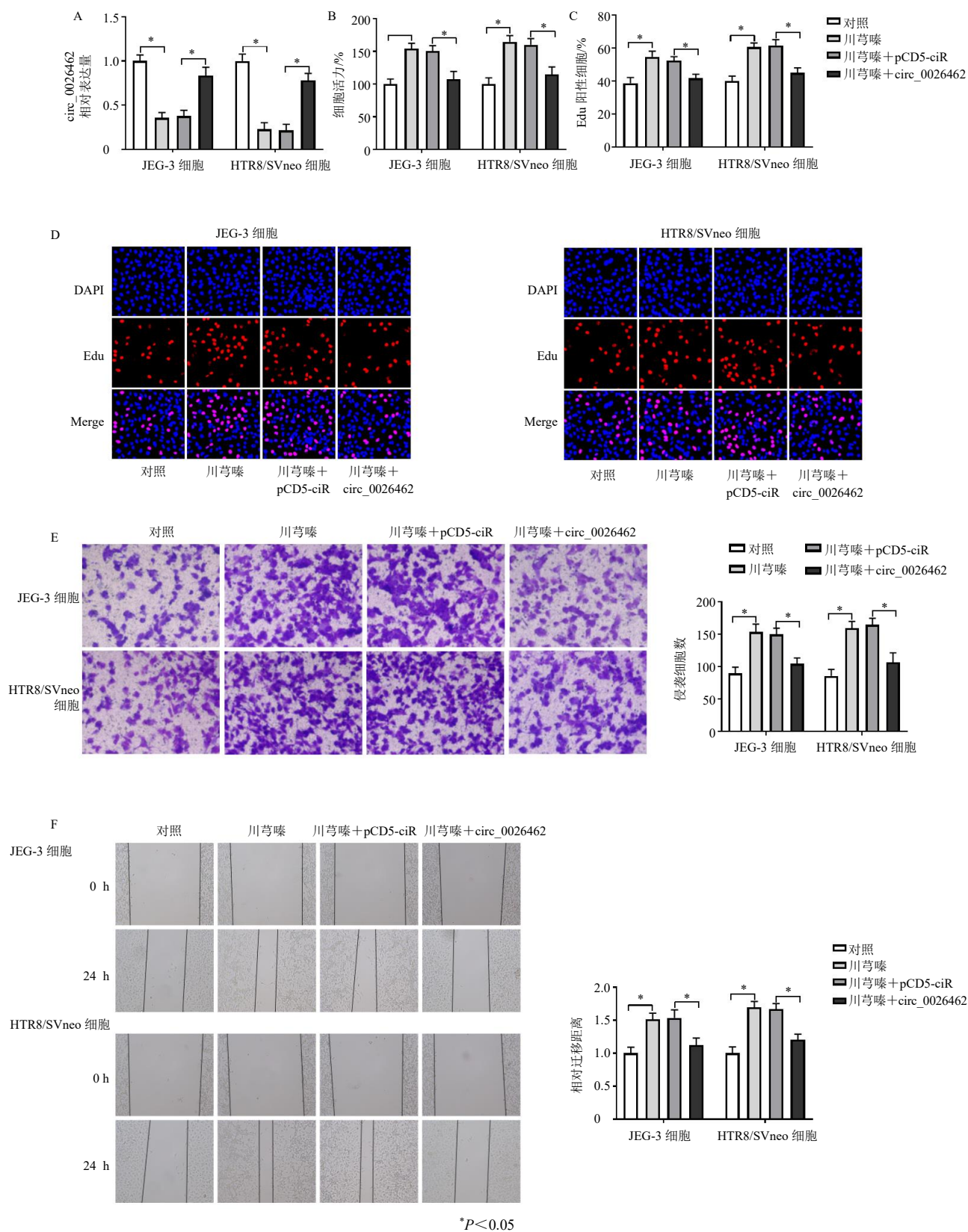


图 5 circ_0026462 高表达逆转川芎嗪对 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞 circ_0026462 表达 (A)、活力 (B)、增殖 (C、D, ×200)、侵袭 (E, ×200) 以及迁移 (F, ×100) 的作用 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

Fig. 5 circ_0026462 high expression reversed effect of ligustrazine on circ_0026462 expression (A), viability (B), proliferation (C, D, ×200), invasion (E, ×200) and migration (F, ×100) of HTR8/SVneo and JEG-3 cells ($\bar{x} \pm s, n=9$)

芎嗪+circ_0026462 组 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞 circ_0026462 表达显著升高 ($P<0.05$), 细胞活力、EdU 阳性细胞数、侵袭及迁移细胞数显著减少 ($P<0.05$)。表明 circ_0026462 高表达能够逆转川芎嗪对滋养层细胞增殖、侵袭以及迁移能力的促进作用。

4 讨论

川芎嗪在治疗心血管、神经、消化系统以及癌症等疾病中表现出良好的疗效^[3,6-7]。目前的研究普遍认为, 先兆子痫源于滋养细胞侵袭受阻和螺旋动脉重构缺陷, 螺旋动脉的重塑为绒毛间腔提供充足的母体血液, 以支持胎儿的正常生长, 而胎盘滋养层细胞深入到蜕膜和子宫肌层为螺旋动脉重塑提供必要条件^[8]。在先兆子痫期间, 细胞滋养层不能从增生性亚型转变为侵袭性型, 导致螺旋动脉重塑异常, 最终导致母体血管狭窄和胎盘灌注不足^[9-11]。因此, 深入研究滋养层细胞功能障碍对于预防先兆子痫具有重要意义。本研究分析川芎嗪对滋养层细胞表型的调控作用, 发现川芎嗪可以促进 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞的增殖、侵袭以及迁移, 并且能改善 L-NAME 诱导的大鼠胎盘组织细胞肿胀、空泡化增加以及炎症细胞浸润现象, 提示川芎嗪对先兆子痫具有治疗作用。

circRNAs 是一类具有共价闭环结构的功能 RNAs, 可调节多种细胞生物学功能^[12-13]。越来越多的报道显示, circRNAs 在先兆子痫孕妇胎盘中的表达和在正常孕妇胎盘中的表达存在显著差异, 表明 circRNAs 可能参与调节先兆子痫的进展。研究发现, circRNA_0088196 通过抑制滋养层细胞的存活促进先兆子痫的发展^[14]。circRNA_06354 可抑制滋养层细胞的迁移、侵袭、以及血管生成, 进而刺激先兆子痫发展^[15]。Hsa_cir_0002348 在先兆子痫患者胎盘中高表达, 体外实验显示 hsa_circ_0002348 促进滋养层细胞凋亡^[16]。因此, 针对 circRNAs 的靶向治疗可能是先兆子痫的潜在治疗策略。本研究通过分析 GSE165324 数据集发现 circ_0026462 在先兆子痫患者中高表达。随后的功能实验证实下调 HTR8/SVneo 和 JEG-3 细胞中 circ_0026462 的表达可显著促进细胞的增殖、侵袭以及迁移。本研究还发现川芎嗪抑制 circ_0026462 在 JEG3 细胞中的表达。研究显示川芎嗪可以通过调节 circRNA 发挥治疗作用。川芎嗪联合芍药苷可以上调 circSCRG1 的表达从而抑制动脉粥样硬化中氧化型低密度脂蛋白诱导的血管生成^[17]。川芎嗪通过下调 circ_0008146

的表达来抑制脑缺血再灌注损伤后的细胞炎症反应和凋亡^[18]。因此, 推测川芎嗪可能通过调节 circ_0026462 影响先兆子痫的进展。进一步实验证实, 在川芎嗪处理后, 滋养层细胞的增殖、侵袭和迁移能力得到了促进。然而, 当 circ_0026462 过表达时, 川芎嗪对滋养层细胞的促进作用得到了逆转。表明 circ_0026462 在川芎嗪对滋养层细胞功能的影响中发挥了关键作用。

综上, 川芎嗪可能通过下调 circ_0026462 的表达促进滋养层细胞增殖、侵袭以及迁移能力, 为川芎嗪的临床应用提供了理论基础。然而, 动物实验结果尚显不足, 为更全面证明川芎嗪的体内药效, 将进一步进行血压变化、尿蛋白含量等指标的相关研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Li Q H, Han Y Y, Xu P, *et al.* Elevated microRNA-125b inhibits cytotrophoblast invasion and impairs endothelial cell function in preeclampsia [J]. *Cell Death Discov*, 2020, 6: 35.
- [2] Lin J G, Wang Q Q, Zhou S M, *et al.* Tetramethylpyrazine: A review on its mechanisms and functions [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 150: 113005.
- [3] Chen Y Q, Lu W J, Yang K, *et al.* Tetramethylpyrazine: A promising drug for the treatment of pulmonary hypertension [J]. *British J Pharmacology*, 2020, 177(12): 2743-2764.
- [4] Yuan Y, Zhao L, Wang X Y, *et al.* Ligustrazine-induced microRNA-16-5p inhibition alleviates preeclampsia through IGF-2 [J]. *Reproduction*, 2020, 160(6): 905-917.
- [5] Wang M, Zhang L, Huang X Y, *et al.* Ligustrazine promotes hypoxia/reoxygenation-treated trophoblast cell proliferation and migration by regulating the microRNA-27a-3p/ATF3 axis [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2023, 737: 109522.
- [6] Yang S J, Wu S D, Dai W L, *et al.* Tetramethylpyrazine: A review of its antitumor potential and mechanisms [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 764331.
- [7] Meng Z Y, Chen H Z, Meng S X. The roles of tetramethylpyrazine during neurodegenerative disease [J]. *Neurotox Res*, 2021, 39(5): 1665-1677.
- [8] Matsubara K, Matsubara Y, Uchikura Y, *et al.* Pathophysiology of preeclampsia: The role of exosomes [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2572.
- [9] Roberts J M, Taylor R N, Musci T J, *et al.* Preeclampsia: An endothelial cell disorder [J]. *Am J Obstet Gynecol*,

- 1989, 161(5): 1200-1204.
- [10] Lam C, Lim K H, Karumanchi S A. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia [J]. *Hypertension*, 2005, 46(5): 1077-1085.
- [11] Ma'ayeh M, Costantine M M. Prevention of preeclampsia [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2020, 25(5): 101123.
- [12] Li B T, Zhu L L, Lu C L, *et al.* circNDUFB2 inhibits non-small cell lung cancer progression via destabilizing IGF2BPs and activating anti-tumor immunity [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 295.
- [13] Chen S J, Huang V, Xu X, *et al.* Widespread and functional RNA circularization in localized prostate cancer [J]. *Cell*, 2019, 176(4): 831-843.
- [14] Xiong Z H, Wang Q M, Pei S P, *et al.* CircRNA_0088196 regulates trophoblast proliferation and apoptosis in preeclampsia through the miR-379-5p/HSPA5 axis [J]. *Biochem Genet*, 2023, doi: 10.1007/s10528-023-10506-6.
- [15] Zhang Y M, Zhao Y Y, Yu F F, *et al.* CircRNA_06354 might promote early-onset preeclampsia in humans via hsa-miR-92a-3p/vascular endothelial growth factor-A [J]. *J Hypertens*, 2023, 41(3): 494-507.
- [16] Zhou J Z, Zhao Y, An P, *et al.* Hsa_circ_0002348 regulates trophoblast proliferation and apoptosis through miR-126-3p/BAK1 axis in preeclampsia [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 509.
- [17] Yuan R, Xin Q Q, Ma X C, *et al.* Identification of a novel angiogenesis signalling circSCRG1/miR-1268b/NR4A1 pathway in atherosclerosis and the regulatory effects of TMP-PF *in vitro* [J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1271.
- [18] Li L T, Zhang D W, Yao W T, *et al.* Ligustrazine exerts neuroprotective effects via circ_0008146/miR-709/Cx3cr1 axis to inhibit cell apoptosis and inflammation after cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Brain Res Bull*, 2022, 190: 244-255.

[责任编辑 李亚楠]